

DOI:10.11931/guihaia.gxzw201802027

珍稀濒危植物金丝李种子脱水耐性和贮藏特性<sup>1</sup>张俊杰<sup>1,2</sup>, 柴胜丰<sup>1</sup>, 王满莲<sup>1</sup>, 吕仕洪<sup>1</sup>, 韦霄<sup>1</sup>, 韦记青<sup>1\*</sup>, 吴少华<sup>2</sup>

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 福建农林大学园艺学院, 福建 福州 350002)

**摘要:** 测定不同脱水程度金丝李 (*Garcinia paucinervis*) 种子的萌发情况及其复水后的吸水率、脱水过程中抗性生理指标的变化以及不同贮藏方式下种子的萌发情况, 研究金丝李种子的脱水敏感性和储藏特性。结果显示: (1) 金丝李种子初始含水量为 45.29%, 室温下放置 35 d 失水率即达 45%。(2) 种子失水率低于 18%时, 萌发率和复水后的吸水率变化不显著; 失水率超过 18%时, 萌发率和复水后吸水率均显著下降, 失水率为 42%时萌发率为 0。其种子的临界含水量为 27.29%, 半致死含水量为 12.72%。(3) 随着种子脱水程度的加深, 相对电导率、可溶性糖及脯氨酸含量逐步上升; 丙二醛含量在失水率低于 24%时变化不大, 高于 24%时显著提高; SOD 和 POD 的活性均呈波动性变化, 失水率为 18%时活性均最高。(4) 室温干藏 1 个月和-1℃、-20℃下湿藏 1 个月的种子均不能萌发; 水浸贮藏 1 个月的种子萌发率显著降低; 4℃湿藏 1、3 和 6 个月均显著延缓种子萌发, 但对萌发率无显著影响。表明金丝李种子在失水率低于 18%时, 种子可通过抗性调节维持细胞的正常代谢, 能忍受一定程度的脱水和低温, 属于低度的顽拗性种子; 当失水率超过 18%时, 种子代谢失衡发生劣变直至死亡。4℃湿沙藏 (含水量 7.5%) 是短期贮藏其种子的较好方法。该研究为保育和利用珍稀濒危树种金丝李提供理论依据。

**关键词:** 种子含水量, 萌发率, 脱水敏感性, 顽拗性种子, 种子贮藏

## Dehydration tolerance and storage characteristics of seeds of the rare and endangered plant *Garcinia paucinervis*

ZHANG Junjie<sup>1,2</sup>, CHAI Shengfeng<sup>1</sup>, WANG Manlian<sup>1</sup>, LÜ Shihong, WEI Xiao<sup>1</sup>, WEI Jiqing\*, WU Shaohua<sup>2</sup>

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** In order to study the dehydration sensitivity and storage characteristics of *G. paucinervis*, the germination of seeds with different dehydration extents and the water absorption after rehydration, the change of physiological indices of resistance as well as the seed germination under different storage methods were measured. The results showed that the initial moisture content of *G. paucinervis* seeds was 45.29%. The dehydration rate was up to 45% when placed after 35d at room temperature. When the dehydration rate was less than 18%, GP and the water absorption rate after rewatering were not significantly different from those of fresh seeds. Further more, when the dehydration rate exceeded 18%, GP and the water absorption rate after rewatering were significantly decreased, and GP was 0 at dehydration rate 42%. The critical moisture content of seeds was 27.29%, and the lethal moisture content of 50% was 12.72%. The relative conductivity, the contents of soluble sugar and proline rose gradually with the deepening of seed dehydration. The content of malondialdehyde (MDA) changed little when the dehydration rate was less than 24%, and increased significantly when exceeding 24%. Both activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) showed a trend of fluctuation and peaked at dehydration rate 18%. Seeds with desiccation storage for 1 month at room temperature, and seeds with storage in damp sand at -1 °C and -20 °C for 1 month all could not germinate. GP of seeds with water immersion for 1 month dropped significantly. Germination processes of seeds with storage in damp sand for 1 month, 3 months or 6 months at 4°C were delayed, but there was no significant effect on GP. It indicated that when the dehydration rate of *G. paucinervis* was less than 18%, seeds could regulate resistance to maintain normal metabolism of cells. The seeds can endure a certain degree of dehydration and low

基金项目: 广西自然科学基金项目 (2015GXNSFDA13915); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD17129022)

[Supported by Natural Science Foundation of Guangxi (2015GXNSFDA13915); Guangxi Science and Technology Base and Special Fund for Talents (AD17129022)]

作者简介: 张俊杰, 男, 1984 年生, 广西柳州人, 博士研究生, 主要从事观赏园艺资源开发利用研究, (E-mail) junjieliuzhou@163.com。

\*通信作者: 韦记青 (1968—) 女, 研究员, 主要从事经济植物引种栽培和生理生态研究, (E-mail) 228541006@qq.com。

temperature, which belong to minimally recalcitrant seeds. When the dehydration rate exceeded 18%, the metabolism of seeds was unbalanced, and then deteriorated until death. Storage in damp sand at 4°C (moisture content 7.5%) is a good method for short-term storage of *G. paucinervis* seeds. This study provides a theoretical basis for better conservation and utilization of *G. paucinervis*, a rare and endangered species,

**Key words:** moisture content of seeds, germination percentage, desiccation sensitivity, recalcitrant seeds, seed storage

了解植物种子的贮藏特性对植物种质资源保存、引种及迁地保护至关重要 (Costa et al, 2018; Wyse et al, 2017)。Roberts (1973) 根据种子的贮藏行为将种子分为顽拗性 (recalcitrant) 种子与正常性 (orthodox) 种子。顽拗性种子在脱离母株时没经历成熟脱水, 其含水量通常高达 30%~60%, 对脱水和低温敏感, 干燥至含水量为 15%~20% 时大多死亡, 在室温通风条件下其贮藏寿命只有数天至数周, 不能像正常性种子一样进行干燥或低温贮藏 (Berjak & Pammenter, 2001)。因此, 顽拗性种子的贮藏条件不易掌控, 需保证其含水量高于临界含水量 (critical moisture content, CMC)。此外, Ellis 等 (1990) 把介于正常性和顽拗性之间的种子定义为中间性 (intermediate) 种子, 其在含水量降低至 7%~12% 时受到伤害, 产中间性种子的植物若起源于热带, 则该种子对低温敏感 (Hong & Ellis, 1996)。

Wyse 和 Dickie (2017) 研究表明约 8% 的物种种子对干燥敏感, 以热带和亚热带湿润阔叶林中植物种子的脱水敏感性最高。顽拗性种子脱水过程中活力下降的主要原因是膜脂过氧化作用导致膜结构与功能被破坏, 抗氧化保护系统活性下降和自由基的积累, 致使细胞代谢紊乱 (Greggains et al, 2001; Varghese et al, 2011)。全球气候变化将对产顽拗性种子的植物生存造成一定威胁, 因此顽拗性种子的脱水敏感性及储藏一直是研究热点。Pelissari 等 (2018) 对巴西的 66 个树种种子脱水耐性的研究表明顽拗性种子脱水耐性的评估可从胚和胚乳、种皮和果皮的含水量着手。藤黄属的热带植物 *Garcinia gummi-gutta* 种子萌发缓慢, 在含水量低于 34% 时萌发率大幅下降, 于 -10 或 5 °C 下贮藏 2 个月即完全失活, 为热带休眠顽拗性种子, 其在密闭的塑料箱中于 15°C 下贮藏 18 个月仍有 90% 的萌发率 (Joshi et al, 2017)。此外, 藤黄属其他植物如 *G. indica*、*G. xanthochymus* 等 (Malik, 2005) 的种子也具有脱水敏感性。贮藏顽拗性种子的原则是在种子所能承受的最低温度下维持其含水量和活力, 并防止微生物侵害 (Berjak & Pammenter, 2007)。布迪椰子 (*Butia capitata*) 种子在冷冻状态下保存易失去活力, 但其分离出的胚可保存于超低温液氮中 (Dias et al, 2015)。

金丝李 (*Garcinia paucinervis* Chun et How) 系藤黄科 (Guttiferae) 藤黄属 (*Garcinia*) 常绿乔木, 属国家二级重点保护植物和濒危级别植物 (Farm et al, 2003), 为喀斯特山体特有珍贵树种, 分布于广西西部、西南部和云南东南部海拔 194~830m 的岩溶山林中 (张俊杰, 2017), 是集观赏价值、生态价值、药用价值和经济价值为一体的优良树种 (Zhang et al, 2015a)。日前, 该物种野生种群分布点有限且分散, 大树及能结实的植株极少, 天然更新困难 (张俊杰等, 2017)。近年来, 喀斯特地貌生境的恶化已制约着喀斯特地区社会经济的发展。金丝李作为该地区优良生态修复树种, 日前尚少人工栽培, 且鲜有关于其人工繁殖的报道。据作者前期研究发现, 金丝李扦插难以成活, 其种子具休眠特性 (张俊杰等, 2018), 在通风处存放 1 个月后便干瘪, 生活力随之丧失, 种子贮藏问题十分棘手, 其苗木繁育极大受限。因此, 该文通过开展金丝李种子不同脱水程度的萌发情况及其复水后的吸水率、脱水过程中抗性生理指标的变化、不同贮藏方式下种子的萌发情况等研究, 探明其脱水敏感性程度并找出科学贮藏方法, 为金丝李的保育和利用提供科学指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

金丝李种子于 2016 年 6 月采自弄岗国家级自然保护区 (22°27'58"N, 106°57'18"E)。果实采收后带回实验室堆沤 10d 左右, 搓洗掉果皮果肉并洗净种子, 晾干表面水分以备用。

### 1.2 测定项目及方法

#### 1.2.1 种子基本特征及含水量测定

采用百粒法测量种子千粒重, 随机抽取 50 粒饱满种子, 测量其二维尺度。以 TTC 法测定新鲜种子的生活力 (宋松泉等, 2005)。随机取 3 粒新鲜种子, 切成 1mm 薄片, 105±2°C 烘 17h 后, 以鲜重为基础计

算种子含水量 (ISTA, 1999), 5 次重复。

### 1.2.2 材料的脱水处理

将种子于分析天平上称量其原重量  $W_1$ , 随即放在室内通风处 ( $26\sim 31^{\circ}\text{C}$ ,  $72\sim 82\% \text{RH}$ ) 自然脱水, 定期称其重量  $W_2$ , 计算失水率: 失水率( $\%$ )= $(W_1-W_2)/W_1\times 100\%$ , 控制种子的失水率在 6%、12%、18%、24%、30%、36%和 42%共 7 个含水量梯度 (允许 0.3%以内的误差)。将部分新鲜 (即初始含水量) 种子和不同失水率的种子用液氮冷冻保存于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱内, 用于抗性生理指标测定。

### 1.2.3 脱水种子复水后吸水率的测定

以新鲜种子为对照, 将失水率为 6%、12%、18%、24%、36%和 42%的种子浸泡于蒸馏水中, 置于  $25^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中自然复水吸胀, 每 1 d 称重 1 次并换水, 当种子吸水达到饱和时记录其重量  $W_3$ , 结合种子原重量  $W_1$  计算脱水种子的吸水率: 吸水率( $\%$ )= $[(W_3-W_1)/W_1]\times 100\%$ , 各重复 3 次, 并统计各脱水梯度种子吸水达到饱和和所需的时间 (以下简称吸水饱和时间)。

### 1.2.4 脱水种子萌发试验与萌发参数的计算

将 1.2.2 中 7 个不同脱水程度的种子以新鲜种子为对照进行萌发试验。播种前种子经 0.1%的  $\text{K}_2\text{MnO}_4$  溶液消毒 30 min, 清水洗净。试验容器为容量为 1000 ml、 $(172\times 117\times 70)$  mm 的塑料盒, 铺以 4 cm 厚经消毒的河沙为基质, 播种深度为 1 cm, 每梯度 2 盒, 每盒播 10 粒, 3 次重复, 放入设定为  $25^{\circ}\text{C}$ 、周期性光照 ( $3000 \text{ lx}$ ,  $12 \text{ h/d}$ ) 的 LRH-250-G 光照培养箱, 适时添加蒸馏水保持基质湿润。萌发试验时长为 448d, 以芽顶出沙层为种子萌发标准, 观察到第 1 粒萌发的种子后, 每 7d 统计 1 次萌发的种子数。根据种子萌发情况计算以下指标: 萌发时滞 (germination time lag, GTL)、萌发率 (germination percentage, GP) 和平均萌发时间 (mean germination time, MGT), 计算方法为:

GTL(d): 即萌发启动时间, 指从萌发试验开始至第 1 粒种子开始萌发所用时间。

GP( $\%$ ) = 萌发种子数/播种种子数 $\times 100\%$ 。

MGT =  $\sum(t_i \times n_i) / \sum n_i$ , 式中  $t_i$  为播种之日开始的第  $i$  天,  $n_i$  为播种后第  $i$  天萌发的种子数 (Liu *et al.*, 2005)。

### 1.2.5 脱水种子抗性生理指标的测定

取失水率为 6%、12%、18%、24%、36%和 42%的种子, 用解剖刀剥去种皮。以新鲜种子为对照, 采用电导仪法测定脱水种子胚和胚乳的相对电导率 (Chai *et al.*, 2018); 采用氮蓝四唑 (NBT) 法和愈创木酚法分别测定其超氧化物歧化酶 (superoxide Dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性; 采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法、蒽酮比色法和磺基水杨酸法分别测定其丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、可溶性糖和脯氨酸含量 (李合生等, 2000), 各重复 3 次。

### 1.2.6 种子贮藏试验

将新鲜种子按以下 8 种方法进行贮藏: (1) 室温干藏 1 个月; (2)  $4^{\circ}\text{C}$  干藏 1 个月: 种子装入牛皮纸袋保存于  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱; (3) 水浸贮藏 1 个月: 将种子置于烧杯中, 加蒸馏水没过种子, 置于  $25^{\circ}\text{C}$  培养箱内, 每天换水 1 次; (4)  $-20^{\circ}\text{C}$  湿藏 (将种子与含水量约 7.5%的河沙按体积比 1: 3 混匀, 下同) 1 个月; (5)  $-1^{\circ}\text{C}$  湿藏 1 个月; (6)  $4^{\circ}\text{C}$  湿藏 1 个月; (7)  $4^{\circ}\text{C}$  湿藏 3 个月; (8)  $4^{\circ}\text{C}$  湿藏 6 个月。将种子贮藏后按照 1.2.4 进行萌发试验, 试验时长设定为 350 d。

## 1.3 试验数据分析

用 Microsoft Excel 2010 统计数据并作表, 采用 SPSS19.0 进行单因素方差分析, Duncan 法进行数据差异比较 (将萌发率拟进行平方根反正弦转换, 使之方差齐性)。统计值以平均值 $\pm$ 标准误 (Mean  $\pm$  SE) 表示。以 SigmaPlot 11.0 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 金丝李种子的大小及含水量

金丝李种子卵形至宽卵形, 胚包裹于胚乳层中, 不易与胚乳分离。种子长 ( $30.80\pm 2.14$ ) mm, 直径 ( $15.39\pm 0.96$ ) mm, 千粒重 ( $438.175\pm 77.53$ ) g。成熟种子的初始含水量为  $45.29\%\pm 0.72\%$ , 种子生活力达  $95.56\%\pm 1.92\%$ 。

### 2.2 室温储藏对种子脱水的影响

种子脱水的持续时间与失水率关系见图 1, 随着自然风干时间的增加种子均匀地脱水, 当种子失水 35

d 之后，失水率在 45%左右趋于平稳。

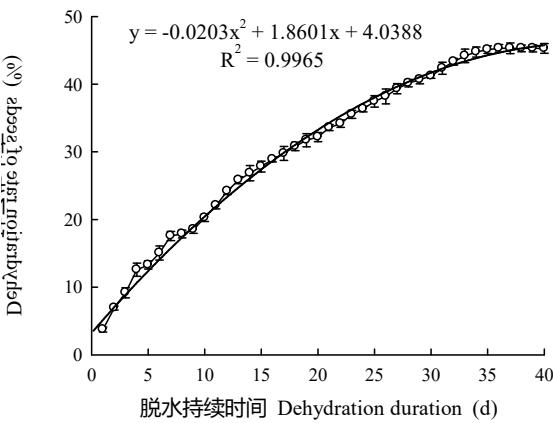


图 1 金丝李种子在室温条件下的失水率变化

Fig.1 Changes of dehydration rate of *G. paucinervis* seeds at room temperature

2.3 不同脱水程度种子复水后的吸水情况

金丝李种子的吸水过程十分缓慢，新鲜种子吸水饱和时间约为 24 d，吸水率为 14.55%。当种子失水率低于 18%时，其饱和吸水率及吸水饱和时间与新鲜种子相比差异不显著。随着种子脱水程度的加深，其饱和吸水率与吸水饱和时间逐渐降低，失水率为 42%的种子复水约 12 d 即达到饱和状态，此时的吸水率为 -6.69%，表明失水率 42%的种子复水后已恢复不到原新鲜种子重量（图 2）。

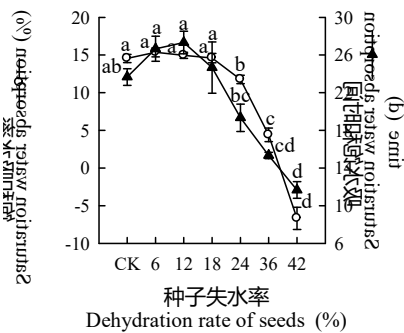


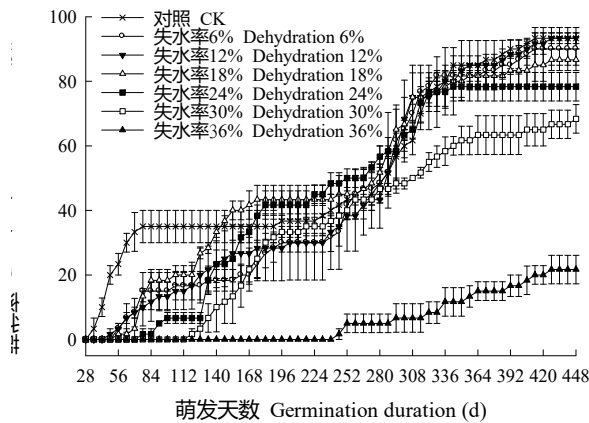
图 2 脱水处理对金丝李种子复水后吸水的影响

Fig.2 Effects of dehydration on water absorption after rewetting of *G. paucinervis* seeds

2.4 脱水处理对种子萌发的影响

失水率为 42%的金丝李种子萌发率为 0。其他各脱水程度的种子萌发动态与萌发参数见图 3 和表 1，未萌发的种子已完全腐烂。失水率 36%的种子萌发率始终低于其他脱水程度的种子。如表 1 所示，脱水处理的种子 GTL 随着种子脱水程度的增加而逐渐延长。新鲜种子的 GP 为 93.33%，当种子失水率低于 18%时，GP 没有显著变化；失水率超过 18%时，GP 下降较快，与对照差异均达显著水平。当种子脱水超过“临界含水量（CMC）”时种子活力大幅下降（Probert & Brierley, 1989; Pammenter et al, 1998），以新鲜种子含水量 45.29%计，可知金丝李种子的 CMC 为 27.29%。当种子失水率为 36%时，其 GP 仅为 21.67%。而平均萌发时间随着脱水程度的加深呈波动性变化，失水率 12%时 MGT 已显著延长至 242.88d，在失水率为 18%~24%时与对照无显著性差异，但失水率为 36%时 MGT 又大幅延长至 337.33d。





注：CK. 对照，即新鲜种子。下同。

CK. Control means fresh seeds. The same below.

图 3 不同脱水程度下金丝李种子的萌发动态

Fig.3 Germination processes of *G. paucinervis* seeds under different dehydration extents

表 1 不同脱水程度下金丝李种子的萌发参数

Table 1 Germination parameters of *G. paucinervis* seeds under different dehydration extents

失水率 Dehydration rate/%	萌发时滞 GTL/d	萌发率 GP/%	平均萌发时间 MGT/d
CK	37.67±2.40e	93.33±3.33a	193.66±16.87c
6	55.33±1.76d	90.00±5.00ab	236.54±13.25b
12	63.33±13.35d	93.33±1.67a	242.88±21.40b
18	65.33±6.17cd	86.67±3.33ab	209.79±6.19bc
24	84.33±5.67c	78.33±4.41bc	207.39±5.19bc
30	129.67±7.88b	68.33±4.41c	234.61±6.92b
36	269.33±23.36a	21.67±4.41d	337.33±7.31a

注：图中不同小写字母表示处理间差异性显著 ( $P<0.05$ )。下同。

Note: Different lowercases indicate significant difference among treatments ( $P<0.05$ ). The same below.

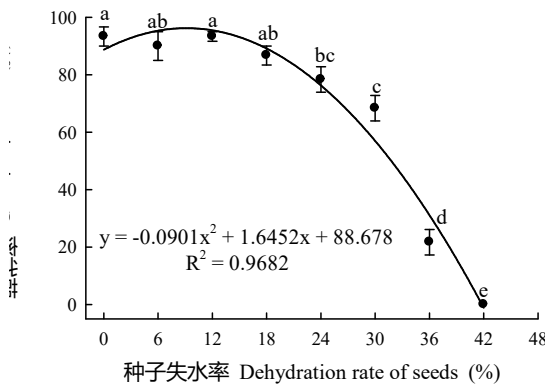


图 4 种子失水率与萌发率的关系

Fig.4 The relationship between dehydration rate and germination rate of seeds

种子萌发率低至新鲜种子萌发率一半时的含水量称为“半致死含水量 (lethal moisture content of 50%, LMC50)” (何惠英和宋松泉, 2003)。以新鲜种子萌发率和含水量分别为 93.33%和 45.29%计, 由图 4 可

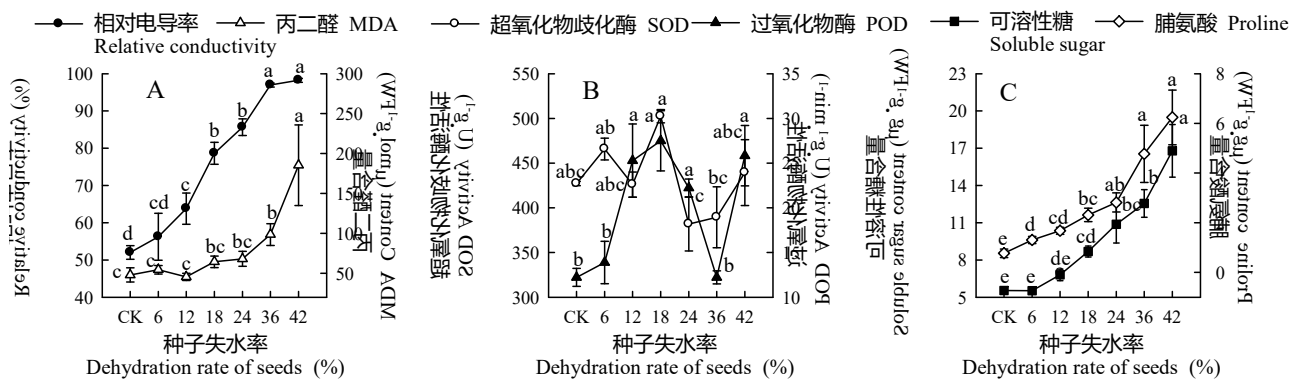
知金丝李种子的 LMC50 为 12.72%。再由图 1 可知,室内自然干燥约 19d 即达到种子的半致死含水量。

## 2.5 种子脱水过程中抗性生理指标的变化

由新鲜金丝李种子脱水至失水率 42% 时,相对电导率由 52.03% 直线上升至 98.24%。由新鲜种子脱水至失水率 18% 时,胚和胚乳的丙二醛含量上升了 34.43%, 差异不显著;而种子由失水率 18% 上升至 42% 时,MDA 含量显著提高了 187.92% (图 5A)。

随着种子脱水程度的增加,SOD 和 POD 活性均呈波动性变化趋势(图 5B)。失水率为 18% 时 SOD 与 POD 活性均达脱水过程的最高值;当种子失水率超过 24% 时,SOD 与 POD 活性显著下降;失水率达 42% 时,活性均有所回升。

金丝李种子的可溶性糖含量在失水率低于 6% 时保持平稳,之后呈直线上升趋势,失水率为 42% 时可溶性糖含量是新鲜种子的 3.03 倍。随着种子脱水程度的增加,脯氨酸含量呈逐步上升趋势,失水率为 42% 时脯氨酸含量比新鲜种子显著增加了 7.10 倍(图 5C)。



注: A. 对相对电导率和丙二醛含量影响; B. 对 SOD 和 POD 活性的影响; C. 对可溶性糖和脯氨酸含量的影响。

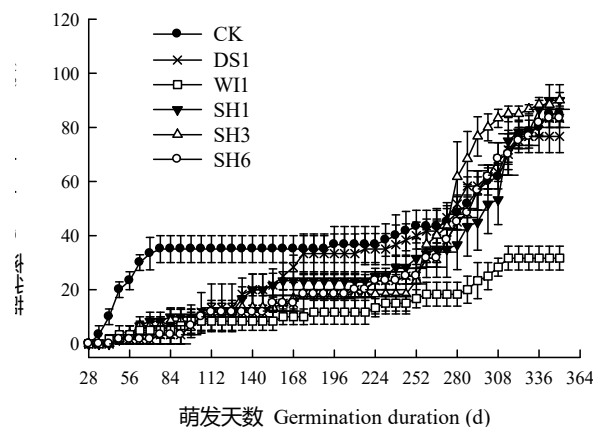
Note: A. Influence on relative conductivity and MDA content; B. Influence on SOD and POD activity; C. Influence on soluble sugar and proline content.

图 5 脱水处理对金丝李种子抗性生理指标的影响

Fig.5 Effects of dehydration on physiological indices of resistance of *G. paucinervis* seeds

## 2.6 贮藏方法对金丝李种子萌发的影响

室温干藏 1 个月的种子和 -1°C、-20°C 湿藏 1 个月的种子至试验结束后均完全腐烂。其余贮藏方法金丝李种子的萌发进程和萌发参数如图 6 和表 2 所示。最终 GP 显示,除 WI1 的种子 GP 显著低于对照外,其余 4 种贮藏方式与对照相比均无显著差异。除 DS1 的 GTL 显著长于对照外,其余贮藏方式的 GTL 与对照相比无显著性差异。对于 MGT, DS1 与 WI1 与对照相比差异不显著,而 SH1、SH3 与 SH6 处理均显著延缓了种子萌发,即 4°C 湿藏延缓了金丝李种子萌发,但对 GP 影响不大。



注：DS1. 4℃干藏 1 个月；W11. 水浸贮藏 1 个月；SH1, SH3, SH6. 4℃湿沙藏 1 个月、3 个月或 6 个月。下同。

Note: DS1. Desiccation storage for 1 month at 4℃; W11. Water immersion storage for 1 month; SH1, SH3, SH6. Storage in moist sand for 1 month, 3 months or 6 months at 4℃. The same below.

图 6 不同贮藏方式下金丝李种子的萌发动态

Fig.6 Germination processes of *G. paucinervis* seeds with different storage methods

表 2 不同贮藏条件下金丝李种子的萌发参数

Table 2 Germination parameters of *G. paucinervis* seeds after different storage conditions

处理 Treatment	萌发时滞 GTL/d	萌发率 GP/%	平均萌发时间 MGT/d
CK	37.67±2.40b	85.00±2.89a	193.66±16.87b
DS1	89.00±25.01a	76.67±6.01a	216.07±5.73ab
W11	50.00±7.00ab	31.67±4.41b	202.47±12.57b
SH1	53.33±5.17ab	90.00±5.77a	248.77±10.24a
SH3	72.00±21.39ab	90.00±2.89a	243.64±15.04a
SH6	72.33±11.57ab	83.33±3.33a	252.57±10.55a

3 结论与讨论

金丝李种子大而重且含水量高，形态上表现出顽拗性种子的特征。在种子失水率低于 18%时，其饱和吸水率、吸水饱和时间与新鲜种子差异不显著，当失水率超过 18%时，两个指标均急剧下降，失水率为 42%的种子复水后已恢复不到种子原重。可能是种子在脱水程度较低时，可通过吸涨作用修复在脱水时膜结构与酶的改变，但种子在高度脱水时，结构蛋白质与酶发生了不可逆转的改变，吸涨作用减弱导致吸水量降低，种子逐渐失活。

金丝李种子在失水率低于 18%时 GP 趋于平稳，失水率超过 18%后 GP 急剧下降，说明轻度的脱水对种子萌发影响不大，但高度脱水则显著降低其萌发率。相关性分析表明金丝李种子失水率与萌发率呈极显著负相关 ( $P<0.01$ )，说明其对脱水敏感。因此在播种时，宜采用失水率低于 18%，或夏季室温通风放置不超过 8 d 的种子。金丝李种子萌发过程漫长，其 GTL 随着种子脱水程度的加深而延长，可能是由于脱水后的种子生理修复需要时间。MGT 随着脱水程度的加深呈现波动性变化的趋势，这种现象在顽拗性的山血丹 (*Ardisia punctata*) 种子上也有体现 (杨期和等, 2013)。金丝李种子失水率在 18%~24%时 MGT 与新鲜种子差异不大，可能与该含水量范围内引起了种子内源激素含量或某些酶的活性有关。

相对电导率和 MDA 含量常用来衡量种子劣变和受伤害程度 (Chen et al, 2016)。MDA 是膜脂过氧化的终产物，脂质过氧化会损害细胞的膜系统，增大膜透性，造成代谢紊乱，且 MDA 会毒害细胞，降低 SOD、POD 等抗氧化保护酶的活性，使蛋白质的结构和功能发生变化 (Ma et al, 2015)，这是种子劣变的主要原因。活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 能加速膜脂过氧化，伤害蛋白质和 DNA (Farooq et al, 2009)，种子在正常代谢受影响时会累积 ROS，且种子的脱水耐性与其抗氧化防御系统有关。金丝李种子在脱水初期，种子水分逆境胁迫机制被激活，引发保护性反应，SOD、POD 等酶的活性在种子脱水过程中逐渐增强以清除不断产生的 ROS，维持细胞膜的稳定性和完整性 (Zhang et al, 2015b)，所以相对电导率和 MDA 的增加均较缓慢；当种子失水率在 18%~36%时，MDA 含量的迅速上升表明膜脂过氧化加剧，MDA 和 ROS 等有害物质的积累对细胞的毒害程度加深，超出了种子的耐受范围，致使 SOD 和 POD 等酶的活性骤降，不能有效清除 ROS (Tang, 2012)，伴随着细胞膜透性增大、细胞内含物外渗，表现为相对电导率的急剧增加，种子的劣变加剧而逐渐失活。金丝李种子在失水率低于 36%时，其相对电导率、MDA、SOD 和 POD4 个抗性生理指标与顽拗性的三七 (*Panax notoginseng*) 和板栗 (*Castanea mollissima*) 种子的整体变化趋势一致 (段银妹, 2014; 宗梅等, 2006)。但当种子失水率超过 36%时，POD 酶则参与了 ROS 的产生，对细胞产生毒害，或是与引起褐变的酚类物质和  $H_2O_2$  反应 (杨淑慎和高俊凤, 2001)，加速已受伤种子的劣变，造成细胞解体而死亡，这种情况在七叶树 (*Aesculus chinensis*) 种子的脱水后期也有体现 (陈淑芬, 2006)。

而脱水后期 SOD 升高的原因尚需进一步研究。可溶性糖能与 LEA 蛋白形成复合物协同控制脱水速度, 脯氨酸则能稳定组织内的代谢及原生质胶体(李合生等, 2000)。这两种渗透调节物质可协助 POD、SOD 清除细胞体内多余的自由基, 保护细胞免受伤害。金丝李种子随着脱水程度的增加, 可溶性糖、脯氨酸含量直线上升, 积累溶质以降低渗透势, 维持细胞渗透平衡, 说明其具有一定的渗透调节能力。结合上述分析可知, 金丝李种子在失水率低于 18% 时, 其萌发率和复水后的吸水情况与新鲜种子差异不显著, 种子可通过抗性调节维持细胞的正常代谢; 当失水率超过 18% 时, 种子代谢失衡而发生劣变直至死亡。

室温干藏 1 个月与 -1°C, -20°C 湿藏 1 个月的金丝李种子不能萌发, 4°C 干藏下有少量种子干瘪, 说明其不宜干藏, 对 0°C 以下低温敏感。因其种子含水量高, 直接贮藏于低于 0°C 环境会引起细胞内结冰, 冻融时破坏膜系统而诱发劣变。低于 15°C 的储藏温度对于大多数热带种子来说是致命的 (Bedi & Basra, 1993), 如 *G. gummi-gutta* 种子 (Joshi et al, 2017)。而金丝李种子可在 4°C 湿藏 6 个月, 虽然其 GTL 和 MGT 有所延长, 但最终 GP 变化不大, 说明 4°C 湿沙藏降低了种子贮藏过程中的新陈代谢, 减缓水份散失, 是短期贮藏金丝李种子的良好方法。水浸贮藏法可能由于部分种子缺氧或微生物感染坏死导致 GP 较低。

根据种子对脱水耐性和低温敏感性的差异, 将顽拗性种子分为高度、中度和低度顽拗性 3 种类型 (Ntuli et al, 2015)。通常温带与热带地区的顽拗性种子相比, 其耐脱水和低温能力要强 (Pammenter & Berjak, 2000)。金丝李生于热带向亚热带的气候过渡带, 其种子能忍受一定程度的干燥脱水和 0°C 以上的低温, 其 CMC 为 27.29%, LMC50 为 12.72%, 低于 0°C 则种子死亡, 其顽拗性程度低于产于北热带的同属植物云树 (*G. cowa*, 种子初始含水量为 50.1%, CMC 为 39%, 4°C 贮藏 1 个月均死亡, Liu et al, 2005), 与低度顽拗性的板栗 (*Castanea mollissima*) 种子接近 (自然干燥 9d 的种子萌发率 100%, 干燥 15d 萌发率为 53.5%, 可于 0~2°C 甚至 -4°C 下湿藏, 陶月良和朱诚, 2004; 王贵禧等, 1999), 高于中间性的凹叶木兰 (*Magnolia sargentiana*) 种子 (CMC 和 LMC50 分别为 15.3%、5.3~7.1%, 唐安军, 2014)。因此, 金丝李种子属于低度的顽拗性种子。根据 Baskin 和 Baskin (2005) 对休眠种子的定义, 未经处理的金丝李种子萌发启动时间超过 4 周, 其种子存在休眠。由于高含水量, 顽拗性种子大多萌发迅速, 被认为无休眠特性或胎生性 (Tweddle, 2003)。但近年来, 陆续有文献报道某些顽拗性种子具有休眠特性 (Jayasuriya et al, 2012; Joshi et al, 2017), 本研究支持后者的观点。

金丝李分布于桂西和滇东南石灰岩山林里, 凋落物对种子的掩埋可保持种子的含水量, 冬季的相对低温为种子创造了天然的湿藏条件。石山上由于岩石裸露、土层薄而较干旱, 其种子低度顽拗性的特点使之在短期轻度的干旱下保持较高的生活力。本研究结果可为金丝李这一珍贵资源的保育与利用奠定基础, 而金丝李种质的长期保存可否用离体胚的超低温保存法, 需后续探讨。

## 参考文献:

- BASKIN CC, BASKIN JM, 2005. Seed dormancy in trees of climax tropical vegetation types[J]. Trop Ecol, 46(1): 17-28.
- BEDI S, BASRA AS, 1993. Chilling injury in germinating seeds: basic mechanisms and agricultural implications[J]. Seed Sci Res, 3(4): 219-229.
- BERJAK P, PAMMENTER NW, 2001. Seed recalcitrance-current perspectives[J]. S Afr J of Bot, 67(2): 79 -89.
- BERJAK P, PAMMENTER NW, 2007. From Avicennia to Zizania: seed recalcitrance in perspective[J]. Ann Bot, 101(2): 213-228.
- CHAI S, TANG J, MALLIK A, et al, 2018. Eco-physiological basis of shade adaptation of *Camellia nitidissima*, a rare and endangered forest understory plant of Southeast Asia[J]. BMC Ecol, 18(1):5.
- CHEN SF, 2006. Studies on mechanisms of desiccation-sensitivity of *Aesculus chinensis* seeds[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University: 49-50. [陈淑芬, 2006. 七叶树种子脱水敏感性机理研究[D]. 南京: 南京林业大学: 49-50.]
- CHEN Y, HAN Y, ZHANG M, et al, 2016 Overexpression of the wheat expansion gene TaEXPA2 improved seed production and drought tolerance in transgenic tobacco plants[J]. PLoS one, 11(4): e0153494.
- COSTA CRX, PIVETTA KFL, DE SOUZA GRB, et al, 2018. Effects of temperature, light and seed moisture content on germination of *Euterpe precatoria* palm[J]. Am J Plant Sci, 9(1): 98.
- DIAS DS, LOPES PSN, RIBEIRO LM, et al, 2015. Tolerance of desiccation and cryopreservation of *Butia capitata* palm seeds[J]. Seed Sci Technol, 43(1):90-100.
- DUAN YS, YANG L, DUAN CL, 2014. Desiccation sensitivity of *Panax notoginseng* seeds and membrane lipid peroxidation[J].



- Seed, 33(4): 6-9. [段银妹, 杨莉, 段承俐, 2014. 三七种子的脱水敏感性与膜质过氧化作用[J]. 种子, 33(4): 6-9.]
- ELLIS RH, HONG TD, ROBERTS EH, 1990. An intermediate category of seed storage behaviour ? I. Coffee[J]. J Exp Bot, 41(9): 1167-1174.
- FARM K, GARDEN B, HAU BCH et al, 2003. Summary of findings from some rapid biodiversity assessments in West Guangxi, China, July 1999[J]. South Chin For Biodivers Surv Rep Ser (Online Simpl Vers), (36).
- FAROOQ M, WAHID A, KOBAYASHI N, et al, 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management[J]. Agron Sustain Dev, 29(1): 185-212.
- GREGGAINS V, FINCHSAVAGE WE, ATHERTON NM, et al, 2001. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds[J]. Seed Sci Res, 11(3): 235-242.
- HE HY, SONG SQ, 2003. Desiccation sensitivity of calophyllum polyanthum seeds and factors affecting their germination. Acta Bot Yunnan, 25(6):687-692. [何惠英,宋松泉, 2003 滇南红厚壳种子的脱水敏感性及其影响萌发的因子[J]. 云南植物研究, 25(6): 687-692.]
- HONG TD, ELIIS RH, 1996. A protocol to determine seed storage behavior[M]// Engels J M, eds. Technical Bulletin No. 1. Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) : 1-51.
- ISTA ( International seed testing association), 1999. International rules for seed testing. Rules 1999.[J]. Seed Sci Technol, 4(1):23-28.
- JAYASURIYA KMG, WIJETUNGA ASTB, BASKIN JM, et al, 2012. Physiological epicotyl dormancy and recalcitrant storage behaviour in seeds of two tropical Fabaceae (subfamily Caesalpinioideae) species[J]. AoB Plants, 2012(1): pls044.
- JOSHI G, PHARTYAL SS, ARUNKUMAR AN, 2017. Non-deep physiological dormancy, desiccation and low-temperature sensitivity in seeds of *Garcinia gummi-gutta* (Clusiaceae): A tropical evergreen recalcitrant species[J]. Trop Ecol, 58(2): 241-250.
- LI HS, SUN Q, ZHAO SJ, et al, 2000. Principles and techniques of plant physiology and biochemistry experiment[M]. Beijing: Higher Education Press: 164-165+167-169+195-197+258-261. [李合生, 孙群, 赵世杰,等, 2000. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社: 164-165+167-169+195-197+258-261]
- LIU Y, QIU YP, ZHANG L, et al, 2005. Dormancy breaking and storage behavior of *Garcinia cowa* Roxb.(Guttiferae) seeds: implications for ecological function and germplasm conservation[J]. J Integr Plant Biol, 47(1): 38-49.
- MA M, CHRISTENSEN M J, NAN Z, 2015. Effects of the endophyte *Epichloe festucae* var. lolii of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) on indicators of oxidative stress from pathogenic fungi during seed germination and seedling growth[J]. Eur j plant pathology, 141(3): 571-583.
- MALIK SK, CHAUDHURY R, ABRAHAM Z, 2005. Desiccation-freezing sensitivity and longevity in seeds of *Garcinia indica*, *G. cambogia* and *G. xanthochymus*[J]. Seed Sci Technol, 33(3):723-732.
- NTULI TM, BERJAK P, PAMMENTER N, 2015. Different assessments of the effect of drying rates on recalcitrant seed material[J]. Am J Biol Life Sci, 3(3): 75-79.
- PAMMENTER NW, GREGGAINS V, KIOKO JI, et al, 1998. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis*.[J]. Seed Sci Res, 8(4):463-471.
- PAMMENTER, NW, BERJAK P, 2000. Some thoughts on the evolution and ecology of recalcitrant seeds[J]. Plant Spec Biol, 15(2):153-156.
- PELISSARI F, JOSÉ AC, FONTES MAL, et al, 2018. A probabilistic model for tropical tree seed desiccation tolerance and storage classification[J]. New Forest, 49(9):143-158.
- PROBERT RJ, BRIERLEY ER, 1989. Desiccation intolerance in seeds of *Zizania palustris* is not related to developmental age or the duration of post-harvest storage[J]. Ann Bot, 64(6): 669-674.
- ROBERTS EH, 1973. Predicting the storage life of seeds[J]. Seed Sci Technol, 1: 499-514.
- SONG SQ, CHEN HY, LONG CL, et al, 2005. A guide to the research of seed biology[M]. Beijing: Science Press: 57-60. [宋松泉, 程红焱, 龙春林等, 2005. 种子生物学研究指南[M]. 北京: 科学出版社: 57-60.]
- TANG AJ, 2014. Seed dormancy and storage behavior of *Magnolia sargentiana* endemic to China[J]. J Plant Physiol, 50(1): 105-110. [唐安军, 2014. 中国特有植物凹叶木兰种子的休眠与贮藏行为[J]. 植物生理学报, 50(1): 105-110.]
- TANG A. 2012. Desiccation-induced changes in viability, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in *Mimosa elengi* seeds[J]. Afr J Biotechnol, 11(44): 10255-10261.

- TAO YL, ZHU C, 2004. Relationship among desiccation-tolerance, proteins and soluble sugars before and after maturation of *Castanea mollissima* seeds[J]. Sci Silva Sin, 40(2): 45-50. [陶月良, 朱诚, 2004. 板栗种子成熟前后脱水敏感性与蛋白质、可溶性糖的关系[J]. 林业科学, 40(2): 45-50.]
- TWEDDLE JC, DICKIE JB, BASKIN CC, et al, 2003. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity[J]. J ecol, 91(2): 294-304.
- VARGHESE B, BERJAK P, VARGHESE D, et al, 2011. Differential drying rates of recalcitrant *Trichilia dregeana* embryonic axes: a study of survival and oxidative stress metabolism[J]. Physiol plant, 142(4): 326-338.
- WANG GX, LIANG LS, ZONG YC. 1999. Controlling of dormancy and sprouting of stored chestnut by means of temperature[J]. Sci Silva Sin, 35(3): 31-35. [王贵禧, 梁丽松, 宗亦臣, 1999. 贮藏板栗休眠与萌芽的温度调控[J]. 林业科学, 35(3): 31-35.]
- WYSE SV, DICKIE JB, 2017. Predicting the global incidence of seed desiccation sensitivity[J]. J Ecol, 105(4): 1082-1093.
- YANG QH, LIN YC, LAI WN, et al, 2013. Investigation on germination characteristics of *Ardisia punctata* Seeds[J]. Seed, 32(9): 41-44. [杨期和, 林玉春, 赖万年, 等, 2013. 山血丹种子萌发特性的初步研究[J]. 种子, 32(9): 41-44.]
- YANG SS, GAO JF. 2001. Influence of active oxygen and free radicals on plant senescence[J]. Acta Bot Boreali-Occident Sin, 21(2): 36-41. [杨淑慎, 高俊凤, 2001. 活性氧、自由基与植物的衰老[J]. 西北植物学报, 21(2): 36-41.]
- ZHANG JJ, CHAI SF, LV SH, et al, 2017. The habitat characteristics and analysis on endangering factors of rare and endangered plant *Garcinia paucinervis*[J]. Ecol Environ, 26(4): 582-589. [张俊杰, 柴胜丰, 吕仕洪, 等, 2017. 珍稀濒危植物金丝李的生存特征及致濒原因分析[J]. 生态环境学报, 26(4): 582-589.]
- ZHANG JY, DAI MH, WANG LC, et al, 2015a. The challenge and future of rocky desertification control in Karst areas in Southwest China[J]. Solid Earth Discuss, 7(4):3271-3292.
- ZHANG Y, ZHANG M, YANG H, 2015b. Postharvest chitosan-g-salicylic acid application alleviates chilling injury and preserves cucumber fruit quality during cold storage[J]. Food Chem, 174:558-563.
- ZONG M, CAI LQ, LV SF, et al, 2006. Effect of different desiccation methods on *Castanea mollissima* embryo axis desiccation sensitivity and physiological metabolism[J]. Acta Hort Sin, 33 (2): 233 -238. [宗梅, 蔡丽琼, 吕素芳, 等, 2006. 不同脱水方法对板栗胚轴脱水敏感性和生理生化的影响[J]. 园艺学报, 33 (2): 233 -238.]
- ZHANG JJ, WEI X, CHAI SF et al, 2018. Dormancy mechanism of the seeds of a rare and endangered plant, *Garcinia paucinervis*[J/OL]. [张俊杰, 韦霄, 柴胜丰, 等. 珍稀濒危植物金丝李种子的休眠机理 [J/OL]. 生态学杂志:1-12[2018-03-29]. <https://doi.org/10.13292/j.1000-4890.201805.034>.